3P273

光化学系 II における P680 カチオンラジカルの電子状態

○北嶋 裕一¹、水出 光¹、輦 達也²、杉浦 美羽³、野口 巧¹
(¹筑波大・数理物質科学、²日大・文理・物理生命、³大阪府大・生命環境科学)

光化学系 II において、二量体クロロフィル P680 は、水分子の酸化を可能にするため、約 1.2V という極めて高い酸化還元電位を持っている。しかし、P680 がそのように高い酸化還元電位を発現するメカニズムは未だ明らかとされていない。本研究では、反応中心蛋白質 (RC: D1-D2-Cytb559) やコア蛋白質など、異なる形態の光化学系 II 試料について、P680 ラジカルカチオン (P680⁺) のフーリエ変換赤外 (FTIR) スペクトルを測定し、P680⁺ の電子状態と酸化還元電位との関係について考察した。ホウレンソウの光化学系 II 膜標品、ホウレンソウ及び好熱性ラン藻 *Thermosynechococcus elongatus* のコア蛋白質、ホウレンソウの RC を用い、定常光照射による明暗差スペクトルとして P680⁺/P680 FTIR スペクトルを測定した。その結果、すべての試料において、P680⁺ 及び P680 由来の C=O 伸縮振動の正負のピークが、それぞれ 1729-1711、1704-1701 cm⁻¹ に観測された。このとき、主要な正のピークと負のピークの振動数差は、膜標品、コア蛋白質、RC で、それぞれ 22、18、7 cm⁻¹ であった。これらの値は、単量体クロロフィル Chl_Z の Chl_Z⁺/Chl_Z スペクトルにおける振動数差 29 cm⁻¹ に比べて小さく、P680 上で正電荷が非局在化しており、RC では特にその度合いが大きいことが示唆された。また、二量体クロロフィル上の非局在電荷に由来する中赤外領域の幅の広い電子吸収帯は、RC (~2200 cm⁻¹) とコア蛋白質、膜標品 (> 3000 cm⁻¹) とで異なる位置に現れ、P680⁺ の電子状態が RC と、より intact な標品とでは異なっていることが示された。P680⁺ のこうした電子状態の違いは、RC において P680⁺ がチロシン Y_Z の酸化能を持たないことと関係していると考えられる。

Y.Kitajima,H.Mizuide,T.Tomo,M.Sugiura,T.Noguchi : Electronic structure of the cation radical of P680 in photosystem II

3P275

光合成光化学系 II 反応中心ではスピン三重項状態がアクセサリクロロフィル上に生成される機構

○斉藤 圭亮、向井 宏一郎、住 斉 (筑波大・物質工)

光合成光化学系 II (PSII) においては、反応中心中のクロロフィル 2 量体 (P) とフェオフィチン H との間に第一電荷分離状態 (P⁺H⁻) が形成されることで太陽光エネルギーが初期固定される。通常の反応では第一電荷分離状態は第二電荷分離状態へと移行するが、少ない確率ながら電荷の再結合反応も起こる。その場合、いわゆるアクセサリクロロフィル (B) 上にスピン三重項状態 (³B*) が生成される。これは紅色細菌光化学系における再結合とは異なる。そこでは、スピン三重項状態はアクセサリクロロフィル上ではなく第一電子供与体たる P 上に観測されるからである。したがって、PSII における B 上での三重項状態生成は、他の光化学系に対する PSII の特異性の現れのひとつである。本研究ではその機構の解明を行う。

PSII における電荷再結合による三重項状態生成機構は、中間分子 B により媒介される電子移動による。中間分子媒介電子移動速度に関する一般理論に基づき、生成速度定数を計算した。計算で得られた速度定数を実験と比較した結果、次のことが明らかになった: PSII における ³B* の生成は 2 つの機構により起こっている。一つは、P⁺ から B へのホール移動と H⁻ から B⁺ への電子移動が逐次的に起こる機構である。もう一つは、P 上に三重項状態 (³P*) が生成されたのち、Dexter 型励起移動で三重項状態が P から B へ移動する機構である (ここで、はじめに ³P* ができる機構は紅色細菌光化学系における三重項状態生成機構と同様である。それは B まで電子が戻ったのち、その状態における蛋白質振動の熱平衡緩和の途中で ³P* が生じる「熱い逐次過程」である)。低温においては、後者の過程が優勢になる。H⁻ から電子が、P⁺ からホールが、B に向かって協奏的に移動して ³B* ができる過程は、それら 2 つの過程に比べると速くない。

K. Saito, K. Mukai and H. Sumi : Mechanism of triplet-state formation on the accessory chlorophyll in the reaction center of photosystem II

3P274

ATR 法を用いた光化学系 II における電子伝達成分の赤外スペクトル測定

○大久保 辰則¹、鈴木 博行¹、杉浦 美羽²、野口 巧¹ (¹筑波大・数理物質科学、²大阪府大・生命環境科学)

光誘起フーリエ変換赤外 (FTIR) 差スペクトル法は、光合成蛋白質の電子伝達成分の研究において極めて有用な手法である。しかしながら、一般に用いられている透過法では、試料を一度セットすると、試料の状態や緩衝液の種類を変えることは困難であった。一方、全反射吸収 (ATR) 法は、ATR 結晶上に試料を吸着させ、緩衝液を交換することにより、蛋白質やコファクターの変化を検出する手法である。光化学系 II 蛋白質には多くの電子伝達成分が存在し、試料の状態や酸化条件を変えることにより、各々の成分の FTIR スペクトルを測定することができる。本研究では、ATR 法と光誘起差スペクトル法を組み合わせることで、試料を交換することなく、光化学系 II の各電子伝達成分の FTIR 差スペクトルを測定した。ホウレンソウから調製した光化学系 II 膜標品、または好熱性ラン藻 *Thermosynechococcus elongatus* の光化学系 II コア蛋白質を、3 回反射 Si 結晶上に吸着させ、緩衝液により水和させた。この試料に以下の順序で処理を施し、FTIR 差スペクトルを測定した。(1) まず、未処理試料に Nd:YAG レーザー (532nm) からの一閃光を照射し、S₂Q_B⁻/S₁Q_B スペクトルを測定した。(2) 次に、DCMU を含む緩衝液に交換し、Q_A から Q_B への電子移動を阻害し、一閃光照射により S₂Q_A⁻/S₁Q_A スペクトルを測定した。(3) そして、ヒドロキシルアミンと DCMU を含む緩衝液よって、Mn クラスターを除去し、Q_A⁻/Q_A スペクトルを測定した。(4) さらに、ハイドロサルファイトナトリウムを含む緩衝液を流して Q_A を還元させ、定常光照射によって Phe⁻/Phe スペクトルを測定した。これらのスペクトルは、以前に測定された透過法による光誘起差スペクトルと基本的に一致していた。このように、ATR 法を利用することにより、同一試料を用いて各電子伝達成分の光誘起差スペクトルを選択的に測定することが可能となった。

T.Okubo,H.Suzuki,M.Sugiura,T.Noguchi : Infrared measurements of the redox cofactors in photosystem II using the ATR method

3P276

PSII におけるクロロフィル三重項状態の消去: 一重還元キノンにより実現される高速な消去機構の理論

○向井 宏一郎、斉藤 圭亮、住 斉 (筑波大学物質工学系)

酸素発生を伴う光合成生物は I と II の光化学系を持つ。光化学系 II (PSII) の反応中心 (RC) において電子伝達を担う色素分子の配置は、紅色光合成細菌の反応中心 (PBRC) における配置と似ている。両者の RC においては、太陽光捕獲により得られた色素励起エネルギーを使ってチラコイド膜の Lumen 側の中心クロロフィル (Chl) 対 (P) を酸化し、Stroma 側のキノンを還元し、後者を膜間空間に放出する。強光下では、電荷の再結合により Chl のスピン 3 重項状態が一定の割合で発生する。3 重項 Chl は酸素分子と相互作用して一重項酸素を生成させる。一重項酸素は蛋白質を酸化し、それを損傷させるので、Chl の 3 重項状態を速やかに消去する機構が反応中心には備わっている。PBRC では Chl 3 重項状態は P 上にできる。その消去はカロテノイドによりなされる。M-branch のアクセサリ Chl のそばにあるカロテノイドが P から 3 重項励起を受け取り、速やかにこれを消去する。一方、PSII においては 3 重項励起は D1-branch のアクセサリ Chl (B) 上にできる。しかしこの付近にはカロテノイドは存在せず、3 重項 Chl は別の機構により消去される。電荷分離のアクセプターであるキノン A (Q_A) が一重に還元されていると 3 重項 Chl の寿命が 1000 倍短くなることが観測されるので、Q_A⁻ が 3 重項消去を担うと考えられる。この消去は B と Q_A の中間に位置するフェオフィチン (H) の 3 重項励起状態により仲介される。中間分子媒介電子移動速度の理論を用いて、消去速度の 1000 倍加速とその温度変化を共に説明することができた。100K より低温では 3 重項消去は超交換仲介により起こるが、それよりも高温では hot-sequential になることが示される。後者では、中間状態 (³H*) が実際にできるが、そこにおけるフォノン緩和の途中に、その状態は Q_A⁻ からの電子移動により quench される。

K.Mukai, K.Saito and H.Sumu : Decay mechanism of the chlorophyll triplet state in the presence of Q_A- in photosystem II